

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
COORDINACIÓN DE FORMACIÓN BÁSICA
COORDINACIÓN DE FORMACIÓN PROFESIONAL Y VINCULACIÓN UNIVERSITARIA
PROGRAMA DE UNIDAD DE APRENDIZAJE

I. DATOS DE IDENTIFICACIÓN

1. **Unidad Académica:** Facultad de Ciencias
2. **Programa Educativo:** Licenciatura en Biología
3. **Plan de Estudios:** 2017-2
4. **Nombre de la Unidad de Aprendizaje:** Inmunología Avanzada
5. **Clave:** 028250
6. **HC:** 00 **HL:** 07 **HT:** 00 **HPC:** 00 **HCL:** 00 **HE:** 00 **CR:** 07
7. **Eta de Formación a la que Pertenece:** Terminal
8. **Carácter de la Unidad de Aprendizaje:** Optativa
9. **Requisitos para Cursar la Unidad de Aprendizaje:** Ninguno



Equipo de diseño de PUA
José Luis Stephano Honedo

Firma

Vo.Bo. Subdirector
Alberto L. Morán y Solares

Firma

Fecha: 23 de enero de 2017



II. PROPÓSITO DE LA UNIDAD DE APRENDIZAJE

La Unidad de aprendizaje de Inmunología Avanzada se encuentra en la etapa terminal con carácter optativo y pertenece al área del conocimiento de Ciencias Naturales y Exactas, es un curso totalmente práctico.

El propósito de este curso es que el alumno construya y produzca una biblioteca de fragmentos de anticuerpos VHH de llama contra antígenos proteicos de origen viral, tumoral, infeccioso y /o marcadores que sirvan como etiqueta, por ejemplo 6His, con la finalidad de coadyuvar en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, tumorales, infecciosas, etc.

III. COMPETENCIA DE LA UNIDAD DE APRENDIZAJE

Producir una biblioteca de fragmentos de anticuerpos VHH de llama o de conejo a través del manejo de técnicas de inmunología y molecular para utilizarlas en diagnóstico o como vacunas, así como discutir las implicaciones que estos métodos ofrecen una solución de problemas inmunológicos con responsabilidad y compromiso.

IV. EVIDENCIA(S) DE DESEMPEÑO

Entrega física de una biblioteca VHH seleccionada o no seleccionada contra un antígeno específico (viral, bacteriano o tumoral).
Reporte final en libreta con cálculos de resultados, discusión de resultados y detalles del método empleado en cada uno de los procedimientos inmunológicos.

Contenido:

1. Mantenimiento de Llamas o conejos (todo el ciclo se alimentarán y cuidará su aseo)
2. Obtención de Suero Preinmune
3. Preparación de Antígeno
4. Sangrado inmune de Llama
5. Purificación de Linfocitos
6. Extracción de RNA total de Linfocitos de Llama
7. Síntesis de cDNA de una sola hebra a partir de RNA total de Llama
8. Amplificación de la librería VHH por PCR
9. Purificación del Vector pCOMB 3x
10. Digestión del vector pCOMB 3x y de la Librería
11. Ligación de los productos de digestión pCOMB 3x y Librería VHH
12. Unidad V Transformación de la Librería
13. Amplificación de las células transformadas
14. Rondas de Selección de los fagos que despliegan VHH

VI. ESTRUCTURA DE LAS PRÁCTICAS

| No. de Práctica | Competencia | Descripción | Material de Apoyo | Duración |
|-----------------|---|---|---|----------|
| 1 | Hacer y experimentar como sangrar de la vena yugular y obtener suero preinmune. | Sujetar, rasurar, sangrar y uso de anticoagulantes | Rasuradora Oster, Veterinario y Anticoagulante | 7 hrs |
| 2 | Probar y discutir las concentraciones a la cual se deben utilizar los antígenos, a través de la cuantificación por espectrofotometría | Mezclado de antígeno y adyuvante en campana de esterilidad. Inyección subcutánea de la extremidad anterior de la llama. | Antígenos, espectrofotómetro. | 7 hrs |
| 3 | Operar la purificación de linfocitos a través de un gradiente de densidad y la extracción del RNA total con Tiocianato de Guanidina para separar los linfocitos por centrifugación con responsabilidad. | Separar los linfocitos por centrifugación, recuperar la fase de células blancas y extraer el RNA total por lisis y centrifugación. | Centrifuga eppendorf refrigerada, Reactivo RNAestat, Espectrofotómetro. | 7 hrs |
| 4 | Experimentar la síntesis del DNA complementario utilizando el kit Superscript II de invitrogen para identificar la transcriptasa reversa y RNA total con responsabilidad. | Utilizar el kit Superscript II de invitrogen. | Kit de Invitrogen de Superscript II. | 7 hrs |
| 5 | Experimentar la amplificación de la librería VHH a través del uso de termociclador y DNA complementario para ajustar las temperaturas de desnaturalización, alineamiento y amplificación con responsabilidad. | Utilizando el termociclador se ajustaran las temperaturas óptimas para ajustar las temperaturas de desnaturalización, alineamiento y amplificación. | Termociclador, Primers, Reactivos. | 7 hrs |
| 6 | Practicar la purificación y cuantificación del vector pCOM3X y de la librería VHH amplificada por electroforesis en gel de agarosa | Purificación con columnas para pCOM3X y por congelamiento y descongelamiento de los productos VHH. | Columnas de silica, agarosa y cámaras de electroforesis. | 7 hrs |
| 7 | Practicar y seleccionar la | Utilizar la librería Sfil para digerir | Termoplato | 14 hrs |

| | | | | |
|----|---|---|---|--------|
| | temperatura optima de digestión del vector pCOM3X y librería VHH a través del uso de enzimas con responsabilidad. | el vector y la librería VHH. | Enzima Sfil | |
| 8 | Seleccionar las mejores proporciones de la librería VHH y pCOM3X digerido por medio de la enzima de ligasa para la ligación con responsabilidad. | Utilizar la enzima ligasa y comprobar la ligación por transformación a pequeña escala | Electroporador, enzima ligasa y medios de cultivo | 14 hrs |
| 9 | Hacer la transformación de la librería ligada a gran escala a través del uso de electroporador para probar los diferentes voltajes, ciclos, etc. con respeto y responsabilidad. | Preparación de células electrocompetentes, medios de cultivo y el producto ligado VHH+pCOM3X. | Células electrocompetentes y electroporador, medios de cultivo y reactivos | 14 hrs |
| 10 | Probar la amplificación de las células transformadas a través del uso de cultivo y de la infección con fago ayudador VCM13 la preparación de medios de cultivo con actitud crítica. | Preparación de medios de cultivo, preparación de cajas petri con antibiótico, preparación de fago ayudador y preparación de reactivos de precipitación. | Medio de cultivo y reactivos y centrifuga, incubadora. | 14 hrs |
| 11 | Identificar la librería seleccionada y no seleccionada a través de fagos que expresan VHH para el cultivo celular, placas de plástico con antígeno con actitud crítica y responsable. | Cultivo celular, placas de plástico con antígeno, adicionarlos fagos que expresan VHH y seleccionar la biblioteca contra el antígeno específico. | Medios de cultivo, fago ayudador VCM13, reactivos, centrifuga, incubadora, antígenos puros. | 14 hrs |

VII. MÉTODO DE TRABAJO

Trabajo en equipo de dos alumnos o trabajo individual. Experimentar, practicar y hacer cada uno de los once ejercicios y comprobar que cada alumno o equipo lo realice de manera correcta presentando una carpeta con los resultados, cálculos y fotografías pertinentes.

El alumno debe trabajar en equipo de dos o trabajar individualmente y deberá explicar el por qué y cómo de cada uno de los procedimientos así como su importancia.

VIII. CRITERIOS DE EVALUACIÓN

Criterios de evaluación

Asistencia de 100 % al laboratorio.

Verificar físicamente la ejecución de la práctica y la presentación de resultados de cada una de las prácticas en una libreta.

Verificar que las practicas esté bien hechas, sino, no se considerara como aprobado.

Examen que demuestra que domina los métodos y que explica la razón para cada uno de los procedimientos.

Laboratorio (entrega biblioteca de VHH) 95 %

Examen 5 %

Para la acreditación del curso se atenderá al Estatuto Escolar Vigente, artículos 70-71, por lo que el estudiante deberá contar un mínimo de 80% de asistencias en el periodo. Tener un mínimo aprobatorio de 60 en su calificación final

IX. BIBLIOGRAFÍA

Básica

1. Phage Display a Laboratorio Manual. Carlos F.Barbas III Cold Spring Harbor Laboratory Press Edition 2001 [clásico]
2. Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA and Kuby J (2013) Immunology, 7th Edition, W.H. Freeman and Company, New York, New York
3. Abbas, A. K., A.H. Lichtman, J.S. Pober. Cellular and Molecular Immunology W.B. Saunders Co., Philadelphia; 8th Edition 2014.
4. Murphy KM, P Travers, M Walport (Eds.) (2010) Janeway's Immunobiology. 8th Edition. New York:Taylor & Francis ; 8th Edition 2011.

Complementaria

Celular y Molecular Immunology 2014. ABBAS. A.K. and A. Lichtman. Edition. Saunders. Ed.
Artículos científicos actuales relacionados con cada tema.

Artículos científicos actuales relacionados con cada tema.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

<https://www.google.es/search?q=inmunologia&tbm=bks&tbo=1&hl=es&oq=inm>

X. PERFIL DEL DOCENTE

Preferentemente con título de licenciatura de Biólogo, área afín, o con posgrado de ciencias naturales, o experiencia probada en el área.